

EFEK INTERVENSI BUAH TAKOKAK (*Solanum torvum* Swartz) TERHADAP KADAR SUPEROKSIDA DISMUTASE ERITROSIT DAN 8-ISOPROSTAN SERUM PADA WANITA DEWASA GEMUK

*(Effect of turkey berry fruits [*Solanum torvum* Swartz] intervention on level of erythrocyte superoxide dismutase and serum 8-isoprostane in obese adult women)*

Putri Novitasari^{1*}, Sri Anna Marliyati¹, Evy Damayanthi¹

¹Departemen Gizi Masyarakat, Fakultas Ekologi Manusia (FEMA), Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680

ABSTRACT

This study aimed to assess the effect of polyphenols in turkey berry fruits on level of antioxidant enzyme (erythrocyte superoxide dismutation [SOD]) and oxidative stress marker (serum 8-isoprostane) in obese adult women. The study was quasi experimental trial with cross-over design. Eight obese women subjects in Benteng Village-Ciampea, Bogor District, West Java were randomly assigned to a control group (n=4), and a turkey berry group (n=4) for 2 x 1 week daily treatment with a one week wash-out period between treatment periods. Turkey berry group consumed home diet and ± 160 g of cooked turkey berry (as a side dish or snack) while the control group consumed only home diet. A food record consumption data was collected twice each week. Blood samples were obtained in the morning at day 1, 8, 15, and 22 of interventions and analyzed for the level of erythrocyte SOD and serum 8-isoprostane. The results showed that the different levels of erythrocyte SOD between post and pre intervention on turkey berry groups was not significantly different compared to the control group ($p=0.607$). Whereas, the different level of serum 8-isoprostane between post and pre intervention on turkey berry group in which decreasing was significantly different from the level on control group which was increasing ($p<0.05$). It seems that daily consumption of cooked turkey berry fruits can improve oxidative stress condition.

Keywords: enzyme antioxidant, oxidative stress, polyphenol

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengkaji pengaruh polifenol dalam buah takokak terhadap kadar enzim antioksidan (superoksida dismutase [SOD] eritrosit) dan penanda stres oksidatif (8-isoprostan serum) pada wanita dewasa gemuk. Penelitian ini merupakan studi kuasi eksperimental dengan desain *cross-over*, sebanyak 8 subjek wanita gemuk di Desa Benteng-Ciampea, Kabupaten Bogor, Jawa Barat secara acak dibagi rata pada kelompok kontrol (n=4) dan kelompok takokak (n=4) selama 2 x 1 minggu perlakuan dengan 1 minggu periode *wash-out* antar periode perlakuan. Kelompok takokak mengonsumsi *home diet* dan ± 160 g takokak masak (sebagai lauk atau camilan), sedangkan kelompok kontrol hanya mengonsumsi *home diet*. Data konsumsi pangan dikumpulkan dengan teknik *food record* 1x24 jam sebanyak dua kali setiap minggu. Sampel darah diambil pagi hari pada hari ke-1, ke-8, ke-15, dan ke-22 intervensi untuk dianalisis kadar superoksida dismutase (SOD) eritrosit dan 8-isoprostan serum. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perbedaan kadar SOD eritrosit antara setelah dan sebelum intervensi pada kelompok takokak tidak berbeda signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p=0,607$). Perbedaan kadar 8-isoprostan serum antara setelah dan sebelum intervensi pada kelompok takokak yang mengalami penurunan berbeda signifikan dengan kelompok kontrol yang mengalami peningkatan ($p<0,05$). Hasil ini memperlihatkan bahwa konsumsi buah takokak masak sehari-hari dapat memperbaiki kondisi stres oksidatif.

Kata kunci: antioksidan enzim, polifenol, stres oksidatif

*Korespondensi: Telp: +628115800677, Surel: putrinovitasarigizi@gmail.com

PENDAHULUAN

Individu dengan IMT (Indeks Massa Tubuh) $\geq 25,0$ kg/m² dikategorikan sebagai gemuk, di dalamnya mencakup kondisi berat badan berlebih (*overweight*) dan obesitas (Balitbangkes 2013). Studi menunjukkan bahwa pada orang gemuk, stres oksidatif dan peradangan kronis merupakan faktor penting yang menyebabkan perkembangan penyakit tidak menular seperti kanker, diabetes melitus, dan penyakit kardiovaskular. Penyakit-penyakit tersebut merupakan penyebab umum kematian dan disabilitas di dunia. Peningkatan stres oksidatif dapat ditunjukkan oleh peningkatan produk peroksidasi lipid (seperti 8-isoprostan) dan penurunan antioksidan enzim (seperti kadar superoksida dismutase/SOD) (Camps *et al.* 2016; Rani *et al.* 2016). Stres oksidatif pada individu gemuk dapat dikurangi dengan meningkatkan sistem pertahanan antioksidan dengan modifikasi diet (Vincent *et al.* 2007). Modifikasi diet yang dapat dilakukan adalah berupa konsumsi makanan tinggi antioksidan, salah satunya polifenol.

Senyawa polifenol dengan aktivitas antioksidan telah terbukti dapat melindungi sel DNA terhadap kerusakan yang disebabkan oleh senyawa oksigen reaktif (SOR). Gugus hidroksil yang melekat pada cincin aromatik fenol berperan sebagai donor elektron atau hidrogen sehingga terjadi pembersihan (*scavenging*) atau penghalang (*interceptor*) terhadap radikal bebas (Issa *et al.* 2006). Diketahui bahwa asupan makanan kaya polifenol dapat mengurangi kondisi stres oksidatif (Annuzzi *et al.* 2014). Salah satu tanaman yang diketahui secara alami mengandung senyawa polifenol adalah takokak (Kusirisin *et al.* 2009; Ramamurthy *et al.* 2012).

Takokak secara umum dikenal sebagai *turkey berry*, termasuk sayuran jenis terong-terongan. Buah takokak sering dikonsumsi oleh masyarakat Jawa Barat baik sebagai lauk atau camilan dan telah lama dipercaya memiliki efek terhadap kesehatan (Andarwulan *et al.* 2012). Buah takokak mengandung polifenol jenis asam fenolat (asam kafeat, asam galat, dan asam ferulat) dan flavonoid (quersetin, rutin, dan katekin) (Gandhi *et al.* 2011; Kusirisin *et al.* 2009; Ramamurthy *et al.* 2012). Sudah ada beberapa penelitian yang mengkaji total fenol dan aktivitas antioksidan dari buah takokak, termasuk efeknya secara *in vitro* maupun terhadap hewan coba (Kusirisin *et al.* 2009; Rahman *et al.* 2013; Rahman *et al.* 2015; Ramamurthy *et al.* 2012; Waghulde *et al.* 2011; Wetwitayaklung & Phaechemud 2011). Akan tetapi, belum ada studi dilaporkan tentang efek polifenol dalam buah takokak terhadap *bio-marker* antioksidan enzim dan stres oksidatif ter-

hadap individu gemuk yang diketahui memiliki tingkat stres oksidatif lebih tinggi dibandingkan orang normal.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek intervensi takokak terhadap kadar SOD eritrosit sebagai penanda antioksidan enzim dan 8-isoprostan serum sebagai penanda stres oksidatif pada wanita dewasa gemuk.

METODE

Desain, tempat, dan waktu

Jenis penelitian ini adalah studi kuasi eksperimental, desain *cross-over* dengan 2x1 minggu periode perlakuan dengan diselingi dengan satu minggu periode *washout* dan diawali oleh satu minggu periode *run-in*. Penelitian tahap intervensi dilakukan di Kampung Gunung Leutik, Desa Benteng, Kecamatan Ciampea, Kabupaten Bogor. Analisis kandungan zat gizi, total fenol, dan aktivitas antioksidan takokak dilakukan di Laboratorium Mbrio Biotekindo. Analisis SOD eritrosit dan 8-isoprostan serum dilakukan di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia. Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2015 sampai dengan Februari 2016.

Jumlah dan cara pengambilan subjek

Rumus perhitungan jumlah subjek total minimal desain *cross-over* berdasarkan Chow *et al.* (2008) menggunakan tingkat kepercayaan 95% dan power 90%. Selisih atau efek yang diharapkan (ϵ) sebesar 10 U/ml dan standar deviasi (σ) sebesar 9,6 berdasarkan penelitian Utari (2011), maka jumlah subjek total minimal total sebesar lima orang.

$$n = [(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 \sigma^2] / 2\epsilon^2$$

$$n = [10,5 (9,6)^2] / 2(10^2) = 4,84 \approx 5 \text{ orang}$$

Keterangan:

n = besar subjek total minimal

10,5 = $(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2$ berdasarkan tingkat kepercayaan 95%, power 90%

σ = 9,6

ϵ = 10 U/ml

Untuk mengantisipasi subjek yang luput dari pengamatan (*drop out*) maka jumlah subjek ditambah 20% sehingga jumlah subjek total minimal yang diperlukan adalah enam orang. Penelitian ini menggunakan desain *cross-over* sehingga hasil perhitungan jumlah subjek minimal merupakan jumlah subjek total minimal yang diperlukan untuk penelitian (n), bukan jumlah subjek minimal untuk setiap perlakuan seperti yang dilakukan pada desain paralel dua kelompok

($n_1=n_2$) (Chow *et al.* 2008). Dikarenakan penelitian ini menggunakan desain *cross-over*, maka semua subjek mengalami kedua perlakuan tersebut sehingga jumlah subjek untuk perlakuan terhitung sebanyak 16 orang (jumlah perlakuan kelompok kontrol = 8 orang dan jumlah perlakuan kelompok takokak = 8 orang).

Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah 1) ibu rumah tangga; 2) IMT $\geq 25,0$ kg/m²; 3) berusia 25-45 tahun dan belum menopause; 4) menyukai takokak; dan 5) bersedia berpartisipasi dan menandatangani *informed consent*. Kriteria eksklusi pada penelitian ini yaitu 1) perokok aktif dan pecandu alkohol; 2) sedang hamil dan menyusui; 3) memiliki riwayat penyakit kronis dan degeneratif; 4) rutin mengonsumsi suplemen antioksidan dan/atau obat fitofarmaka; dan 5) sedang berpartisipasi pada penelitian lain. Setelah menandatangani *informed consent*, calon subjek melewati tahap penapisan dengan bantuan kuesioner wawancara. Calon subjek yang lulus penapisan kemudian dinyatakan menjadi subjek penelitian.

Saat penjarangan, terdapat 12 calon subjek yang menandatangani persetujuan setelah penjelasan secara tertulis (*informed consent*) untuk bergabung dalam penelitian. Saat penapisan, terdapat dua calon subjek yang tidak sesuai dengan kriteria penelitian pada poin IMT, yaitu memiliki IMT $< 25,0$ kg/m². Kesepuluh subjek kemudian memasuki periode *run-in* selama tujuh hari. Saat pengambilan darah pertama terdapat dua orang yang harus *drop-out* karena takut untuk diambil darah. Subjek penelitian menjadi delapan orang, kemudian secara acak subjek tersebut dibagi menjadi dua kelompok masing-masing sebanyak empat orang, yaitu kelompok kontrol dan kelompok takokak. Pengacakan dilakukan menggunakan bantuan *Ms. Excel*. Protokol pelaksanaan penelitian sudah mendapatkan persetujuan dari Komite Etik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia Nomor: i089/UN2.F1/ETIK/2015.

Bahan dan alat

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah takokak (*Solanum torvum*) yang diperoleh dari Pasar Anyar Kota Bogor. Bahan lain yang diperlukan yaitu reagen *8-isoprostane ELISA Kit* (Cusabio E12100h), reagen *Superoxide Dismutase (SOD) Activity Assay Kit* (Biovision, K335-100), *Superoxide Dismutase (SOD) Human Recombinant* (Biovision 4802-20), air bebas mineral, etanol, Na-EDTA, es batu, serta bumbu-bumbu untuk memasak takokak.

Alat-alat yang digunakan meliputi timbangan BB dengan ketelitian 0,1 kg (Model EB9003, CAMRY®, Guangdong, China), pengukur TB *microtoise* dengan ketelitian 0,1

centimeter (OneMed, Surabaya, Indonesia), pengukur tekanan darah Sphygmomanometers dengan ketelitian 1.0 mmHg (nova-presameter®, Bruckstr., Germany), peralatan untuk memasak, timbangan makanan, peralatan pengambil darah (syringe 5cc, kapas, alkohol, plester, tabung, vial), peralatan laboratorium (sarung tangan, tabung reaksi, piala gelas, pipet mikro dan tip, labu semprot, gelas ukur, botol penyimpanan, inkubator, *microcentrifuge*, lemari pendingin -80°C dan -20°C, *plate shaker*, *ice maker*, vortex, printer, *96-well plate*, *microplate reader* (VMax® Kinetic, Molecular Devices, USA).

Jenis dan cara pengumpulan data

Data yang dikumpulkan meliputi karakteristik sosial ekonomi, riwayat status kesehatan, antropometri, konsumsi pangan, dan biokimia darah. Data karakteristik sosial ekonomi meliputi pendidikan, pekerjaan, dan pendapatan/pengeluaran. Data riwayat kesehatan meliputi riwayat penyakit, kebiasaan konsumsi obat dan suplemen. Data-data tersebut diambil dengan teknik wawancara menggunakan kuesioner. Data status kesehatan dikumpulkan dengan cara pemeriksaan fisik, anamnesis, serta wawancara keluhan dan riwayat penyakit yang dilakukan oleh dokter, sedangkan pengukuran tekanan darah dilakukan oleh seorang perawat. Data antropometri meliputi BB, TB, dan IMT. Saat pengukuran, subjek menggunakan pakaian ringan dan tanpa alas kaki. Data karakteristik umum subjek, sosial ekonomi, status kesehatan, dan antropometri dikumpulkan satu kali pada awal penelitian yakni sebelum periode *run-in*.

Data konsumsi dikumpulkan dengan metode pencatatan konsumsi makanan (*food record*) dan SQFFQ (*semi quantitative-food frequency questionnaire*). *Food record* dilakukan sebanyak 2x24 jam setiap minggu dan SQFFQ sebanyak satu kali di awal periode *run-in* untuk mengetahui pola konsumsi subjek sebelum intervensi. Berdasarkan hasil *food record* dianalisis asupan energi dan zat gizi makronya. Data biokimia darah meliputi kadar SOD eritrosit dan 8-isoprostan serum. Kepatuhan konsumsi takokak dikontrol dengan menghitung jumlah takokak yang dikonsumsi dan tersisa, serta kepatuhan terhadap konsumsi pangan yang harus dihindari selama intervensi berdasarkan data dari *food record*.

Tahapan penelitian

Penentuan kandungan zat gizi, total fenol, dan aktivitas antioksidan dari takokak. Takokak masak yang diintervensikan dianalisis kandungan zat gizi (analisis proksimat), kadar total fenol (metode Folin-Ciocalteu), dan aktivitas

antioksidannya (metode DPPH). Analisis proksimat yang dilakukan meliputi analisis kadar air dan abu metode gravimetri (SNI 01-2891-1992), kadar protein metode Kjeldahl (SNI 01-2891-1992), kadar lemak metode Soxhlet (IKP/K-1), dan kadar karbohidrat metode *by difference* (IKP/K-3).

Pelaksanaan intervensi. Penelitian ini dibagi menjadi empat periode secara berurutan terdiri atas 1) periode *run-in*, 2) periode intervensi I, 3) periode *washout*, dan 4) periode intervensi II. Setiap periode dilakukan selama satu minggu (7 hari). Saat periode *run-in* dan *washout*, seluruh subjek mengonsumsi makanan rumah sehari-hari (*home diet*) dan subjek tidak diperbolehkan mengonsumsi takokak dan hasil olahannya. Saat periode intervensi, kelompok takokak mengonsumsi *home diet* dan takokak masak, sedangkan kelompok kontrol hanya mengonsumsi *home diet*. Selama intervensi, seluruh subjek diminta untuk tidak mengonsumsi pangan tinggi kadar polifenol seperti teh, kopi, coklat, sayuran berdaun hijau dan berwarna, kacang-kacangan dan olahannya, buah-buahan, serta bumbu/rempah (Muchtadi 2004; Manach *et al.* 2004) dan tidak diperkenankan mengonsumsi semua jenis suplemen dan obat. Seluruh subjek diberikan daftar pangan tinggi kadar polifenol oleh peneliti.

Takokak yang diintervensikan berupa takokak yang dimasak dengan bumbu masakan yang berbeda-beda setiap harinya, baik bersantan maupun tanpa santan. Jenis masakan takokak tersebut adalah (1) takokak bumbu gulai, (2) takokak bumbu soto, (3) takokak bumbu rendang, (4) takokak bumbu semur, (5) takokak bumbu kare, (6) takokak saus lada hitam, dan (7) takokak bumbu opor.

Berdasarkan penelitian Rahman *et al.* (2015), dosis ekstrak takokak yang terbaik sebagai antioksidan adalah 800 mg/kg BB pada tikus putih, sehingga bila dikonversi ke dosis manusia sesuai dengan rata-rata BB subjek, maka takokak yang diperlukan adalah sebanyak 150 g takokak mentah per subjek per hari. Dikarenakan takokak yang diberikan dalam bentuk masak, adanya faktor pemasakan menyebabkan takokak masak yang diberikan adalah sebanyak ± 160 g per subjek per hari, takokak masak diberikan setiap hari selama satu minggu. Subjek mempersiapkan seluruh kebutuhan makannya sendiri kecuali masakan takokak yang disiapkan oleh peneliti. Takokak masak tidak harus dihabiskan pada satu waktu, namun diminta untuk dihabiskan dalam satu hari, dapat dimakan sebagai lauk maupun sebagai cemilan tergantung preferensi subjek.

Pengambilan darah. Pengambilan sampel darah dilakukan sebanyak 4 kali, yakni hari ke-1 (akhir periode *run-in*), ke-8 (akhir periode

intervensi I), ke-15 (akhir periode *wash-out*), dan ke-22 (akhir periode intervensi II). Sebelum pengambilan darah, subjek diminta untuk puasa selama 10-12 jam terlebih dahulu, mulai malam hari terakhir setiap periode dan pengambilan darah dilakukan serentak pada pagi hari keesokannya dimulai pukul 06.30 hingga selesai. Pengambilan darah dilakukan di lipatan siku tangan subjek oleh seorang bidan.

Darah diambil secara aseptis sebanyak 5 ml dengan *venojek* sekali pakai. Sampel darah dibagi 2 masing-masing 2,5 ml dan ditempatkan dalam 2 jenis *vacutainer* steril yang berbeda, yakni *vacutainer* berisi antikoagulan EDTA dan *vacutainer* serum yang kemudian dimasukkan ke dalam *cool box* dan dibawa ke laboratorium untuk dianalisis. Cara mendapatkan eritrosit untuk analisis kadar SOD eritrosit adalah darah pada tabung EDTA disentrifugasi pada 1000xg selama 10 menit pada suhu 4°C, kemudian lapisan plasma dipisahkan. Ditambahkan air suling dingin sebanyak 5 kali volume ke dalam tabung berisi eritrosit kemudian disentrifugasi pada 10000xg selama 10 menit. Supernatan disimpan pada suhu -80°C sampai siap untuk dianalisis. Supernatan tersebut menggunakan pengenceran 25 kali saat analisis kadar SOD eritrosit.

Vacutainer serum berisi gel pemisah antara serum darah dengan bagian lain dari darah. Tabung disentrifugasi dengan kecepatan 1.500 rpm selama 10 menit. Serum darah adalah cairan bening kekuningan yang berada di atas gel pemisah. Serum kemudian disimpan dalam *freezer* pada suhu -80°C dan siap digunakan sebagai sampel untuk analisis 8-isoprostan.

Pemeriksaan kadar SOD eritrosit dan kadar 8-isoprostan serum dilakukan dengan metode ELISA dihitung pada panjang gelombang 450 nm menggunakan *microplate reader*. Kadar SOD eritrosit diekspresikan dalam satuan Unit per mililiter (U/ml), sedangkan kadar 8-isoprostan serum dalam pikogram per milliliter (pg/ml).

Pengolahan dan analisis data

Analisis data yang pertama dilakukan adalah pengukuran deskriptif terhadap beberapa parameter seperti karakteristik individu dan sosial ekonomi. Beberapa ukuran yang dianalisis antara lain rata-rata, *median*, standar deviasi, nilai minimum, dan nilai maksimum. Perhitungan asupan zat gizi antar periode berdasarkan data kuantitatif *food record* diolah dengan bantuan *Nutrisurvey* dan *Ms. Excel*, kemudian dianalisis perbedaannya menggunakan *one-way ANOVA*.

Langkah pertama semua pengujian statistik dengan menguji distribusi sebaran normalitas data dengan menggunakan Uji Kosmogorov-Smirnov. Jika $p > 0,05$ maka sebaran data tergolong terdistribusi normal. Uji statistik para-

meter biokimia darah dilakukan melalui beberapa tahap. Efek intervensi terhadap kadar SOD dan 8-isoprostan untuk perbandingan *intra-group* (*baseline vs. endline*) menggunakan uji beda *paired t-test* dan perbandingan *inter-group* (net perubahan= setelah intervensi – sebelum intervensi) dievaluasi dengan menggunakan uji beda *independent t-test*. Semua perhitungan statistik dilakukan menggunakan perangkat lunak SPSS. Nilai $p < 0,05$ dianggap signifikan secara statistik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan zat gizi, total fenol, dan aktivitas antioksidan dari takokak

Komposisi pangan intervensi dihitung sebagai takokak masak santan dan takokak masak tanpa santan. Takokak yang diberikan per hari sebanyak 150 g berat mentah, jika menggunakan faktor mentah masakannya, maka jenis takokak masak santan ($f=0,91$) yang diberikan per hari memiliki berat 164,8 g dan takokak masak tanpa santan ($f=0,93$) sebesar 161,3 g. Kandungan zat gizi, total fenol, dan aktivitas antioksidan takokak masak disajikan pada Tabel 1.

Hasil penelitian Rahman *et al.* (2013), menunjukkan bahwa kadar total fenol dari ekstrak etanol takokak segar adalah sebesar 186,8 mg GAE/100 g. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol takokak segar sebesar 98,0 mg AEAC/100 g. Belum ada penelitian sebelumnya yang menganalisis kadar total fenol dan aktivitas antioksidan dari takokak masak santan maupun tanpa santan. Perbedaan kadar total fenol dan aktivitas antioksidan takokak pada penelitian ini dengan studi sebelumnya dapat disebabkan oleh perbedaan budidaya, tempat tumbuh, jenis/mutu takokak yang dianalisis, faktor teknis saat analisis (penggunaan pelarut, suhu, dan lama proses ekstraksi), serta proses pengolahan/pemasakan yang dilakukan.

Karakteristik subjek

Sebanyak delapan subjek mengikuti penelitian ini secara lengkap. Karakteristik subjek

Tabel 2. Data karakteristik subjek penelitian

Variabel	Nilai	Kisaran
Usia (tahun)	37 ± 7	27 – 45
Berat badan (kg)	$63,1 \pm 3,9$	56,7 – 67,8
Tinggi badan (cm)	$152,3 \pm 4,2$	146,0 – 159,5
IMT (kg/m^2)	$27,2 \pm 1,9$	25,2 – 29,9
Tekanan darah sistolik (mmHg)	$118,8 \pm 9,9$	110 – 130
Tekanan darah diastolik (mmHg)	$76,3 \pm 9,2$	70 – 90

dapat dilihat pada Tabel 2. Rata-rata usia subjek penelitian ini adalah 37 ± 7 tahun dengan usia subjek terendah adalah 27 tahun dan tertinggi 45 tahun. Semua subjek memiliki $\text{IMT} > 25,0$ (gemuk) dengan IMT terendah $25,2 \text{ kg/m}^2$ dan IMT tertinggi $29,9 \text{ kg/m}^2$. Seluruh subjek memiliki tekanan darah normal sesuai kriteria yang telah ditetapkan sebelumnya.

Pola konsumsi sebelum intervensi

Pola konsumsi dilihat berdasarkan kuesioner SQFFQ. Dilihat dari pola konsumsi pangan subjek, terlihat bahwa subjek kurang mengonsumsi sayuran dan buah-buahan yang diketahui tinggi polifenol (sekitar seminggu 1x) sehingga subjek tidak perlu berusaha keras untuk menghindari makanan atau pangan yang tinggi polifenol yang ada di dalam daftar yang dibuat oleh peneliti. Seluruh subjek menyatakan menyukai semua jenis makanan/jenis bumbu masakan dan tidak ada yang benar-benar tidak disukai. Seluruh subjek juga menyatakan tidak memiliki alergi terhadap makanan apapun.

Asupan dan tingkat kecukupan zat gizi

Tabel 3 menunjukkan rata-rata asupan dan tingkat kecukupan zat gizi subjek sebelum dan selama intervensi (berdasarkan periode). Data ini diperoleh dengan bantuan kuesioner *food record* yang diambil 2 kali/minggu. Rata-rata asupan dan tingkat kecukupan pada kelompok takokak

Tabel 1. Kandungan zat gizi, total fenol, dan aktivitas antioksidan takokak masak per sajian

Parameter	Takokak masak santan	Takokak masak tanpa santan
Berat per Sajian (g)	164,84	161,29
Energi (kkal)	149,67	144,77
Protein (g)	4,25	4,69
Lemak (g)	5,67	4,05
Karbohidrat (g)	20,41	22,39
Total Fenol (mg GAE*)	519,11	573,76
Aktivitas Antioksidan (mg AEAC**)	72,13	71,74

* GAE: *Gallic Acid Equivalents* (metode Folin-Ciocalteu);

**AEAC: *Ascorbic Acid Equivalent Antioxidant Capacity* (metode DPPH)

Tabel 3. Asupan dan tingkat kecukupan energi, protein, lemak, dan karbohidrat antar periode

Zat gizi (satuan)	Periode	Rata-rata	Stdev	Min	Maks	<i>p-value</i> *	Tingkat Kecukupan (%)	<i>p-value</i> *
Energi (kkal)	<i>run-in</i>	1487	293	1114	2250	0,840	68,8	0,842
	intervensi I	1582	302	1065	1975		73,1	
	<i>wash-out</i>	1580	435	758	2234		73,0	
Protein (g)	intervensi II	1567	313	1022	2296	0,856	72,5	0,852
	<i>run-in</i>	53,8	15,3	31,4	89,9		94,6	
	intervensi I	57,4	21,4	29,6	108,3		100,9	
Lemak (g)	<i>wash-out</i>	60,1	25,0	26,4	99,4	0,901	105,7	0,896
	intervensi II	56,7	18,4	26,9	90,9		99,7	
	<i>run-in</i>	49,2	17,4	19,0	102,5		79,8	
Karbohidrat (g)	intervensi I	49,3	18,6	19,5	80,5	0,725	80,2	0,730
	<i>wash-out</i>	48,4	22,4	25,0	84,5		78,9	
	intervensi II	53,6	26,2	23,2	108,5		87,6	
	<i>run-in</i>	203,8	46,4	123,8	291,3	0,725	63,4	0,730
	intervensi I	222,7	51,0	102,8	282,6		69,4	
	<i>wash-out</i>	221,5	67,6	98,6	342,8		69,0	
	intervensi II	209,8	54,4	76,4	279,2		65,4	

**One-way Anova* ($p > 0,05$ tidak terdapat perbedaan nyata antar periode)

tidak menyertakan pangan intervensi dalam perhitungan.

Berdasarkan Tabel 3, diketahui bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan dari asupan dan tingkat kecukupan energi, protein, lemak, dan karbohidrat antara keempat periode intervensi ($p > 0,05$). Menurut WNP (2004), rata-rata tingkat kecukupan energi subjek sebelum dan selama intervensi masuk ke dalam kategori defisit energi ($< 80\%$ AKG). Rata-rata tingkat kecukupan protein subjek masuk ke dalam kategori cukup ($> 90\%$ AKG). Rata-rata tingkat kecukupan lemak dan karbohidrat subjek selama intervensi kurang dari 90%.

Biomarker antioksidan enzim

Penanda status antioksidan ditampilkan pada Tabel 4. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar SOD eritrosit setelah intervensi pada kelompok kontrol dan takokak tidak signifikan lebih besar dibandingkan sebelumnya. Ada kecenderungan peningkatan kadar SOD eritrosit

yang lebih besar terjadi pada kelompok takokak dibandingkan kelompok kontrol setelah intervensi tetapi perbedaannya tidak signifikan secara statistik ($p > 0,05$).

Kadar SOD normal berkisar antara 164-240 U/ml (Randox 2009). Jika dibandingkan, rata-rata kadar SOD subjek sebelum intervensi pada kelompok kontrol dan takokak keduanya berada di bawah kisaran normal. Hal ini membuktikan bahwa subjek gemuk memiliki status antioksidan enzim lebih rendah dibandingkan orang normal.

Kurangnya efek peningkatan kadar SOD eritrosit pada penelitian ini berbeda dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa makanan tinggi polifenol dapat meningkatkan kadar antioksidan enzim endogen secara signifikan (Utari 2011; Khan *et al.* 2015; Li *et al.* 2007; Babu *et al.* 2006). Perbedaan hasil ini mungkin disebabkan oleh durasi intervensi yang kurang lama atau ukuran subjek yang sedikit.

Tabel 4. Kadar SOD eritrosit subjek wanita gemuk sebelum dan setelah intervensi

Parameter	Periode	Kontrol	Takokak	<i>p-value</i> **
SOD (U/ml)	Sebelum	77,03 ± 35,11	89,78 ± 42,64	0,607
	Setelah	82,81 ± 30,51	114,62 ± 52,98	
	<i>p-value</i> *	0,773	0,444	
	Selisih	5,78 ± 54,61	24,83 ± 86,53	

* *Paired t-test* ($p < 0,05$ = perbedaan signifikan intra kelompok);

** *Independent t-test* ($p < 0,05$ = perbedaan signifikan antar kelompok)

Tabel 5. Kadar 8-isoprostan serum subjek wanita gemuk sebelum dan setelah intervensi

Parameter	Periode	Kontrol	Takokak	<i>p-value</i> **
8-Isoprostan (pg/ml)	Sebelum	301,29 ± 39,35	329,52 ± 61,90	
	Setelah	347,66 ± 43,83	306,22 ± 32,08	
	<i>p-value</i> *	0,043	0,286	
	Selisih	46,38 ± 53,22	-23,30 ± 57,10	0,024

* *Paired t-test* ($p < 0,05$ = perbedaan signifikan intra kelompok);

** *Independent t-test* ($p < 0,05$ = perbedaan signifikan antar kelompok)

Biomarker stres oksidatif

Penanda stres oksidatif ditampilkan pada Tabel 5. Banyak studi yang menganalisis efek intervensi antioksidan terhadap tingkat stres oksidatif tubuh manusia berdasarkan senyawa hasil peroksidasi lipid (Annuzzi *et al.* 2014; Khan *et al.* 2015; Ramatina *et al.* 2014; Utari 2011; Li *et al.* 2007). Akan tetapi, *biomarker* peroksidasi lipid terbaik saat ini adalah dari keluarga isoprostan, karena stabil dan lebih sensitif (Vincent *et al.* 2007).

Kadar 8-isoprostan normal berkisar antara 40-100 pg/ml (Wang *et al.* 1995). Jika dibandingkan, rata-rata kadar 8-isoprostan subjek sebelum intervensi pada kelompok kontrol dan takokak keduanya berada jauh di atas kisaran normal. Hal ini membuktikan bahwa subjek gemuk mengalami stres oksidatif lebih tinggi dibandingkan orang normal.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar 8-isoprostan serum setelah intervensi pada kelompok kontrol mengalami peningkatan signifikan dibandingkan sebelumnya ($p < 0,05$). Sebaliknya, kadar 8-isoprostan serum setelah intervensi pada kelompok takokak mengalami penurunan tetapi tidak signifikan ($p = 0,286$). Perubahan (*net change*) kadar 8-isoprostan serum pada kelompok takokak ditemukan berbeda signifikan dibandingkan kelompok kontrol ($p < 0,05$).

Penurunan kadar 8-isoprostan serum setelah intervensi dapat disebabkan oleh kadar polifenol yang tinggi dari takokak. Beberapa hasil penelitian sebelumnya mengenai efek polifenol terhadap kadar isoprostan juga memberikan hasil yang serupa pada subjek manusia maupun hewan (Ari-Agung *et al.* 2013; Annuzzi *et al.* 2014). Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa efek intervensi makanan tinggi polifenol dapat mengurangi stres oksidatif.

Kepatuhan

Kepatuhan konsumsi takokak dilihat dari jumlah yang dimakan per hari, serta dari pangan lain yang tidak boleh dikonsumsi selama intervensi berdasarkan *food record*. Dilihat dari takokak yang dikonsumsi, subjek termasuk patuh karena rata-rata takokak yang dihabiskan setiap harinya lebih besar dari 95%. Dilihat dari jenis

pangan lain yang seharusnya tidak boleh dikonsumsi selama intervensi berdasarkan *food record*, ada beberapa pangan yang dikonsumsi oleh subjek selama intervensi yang seharusnya dihindari yakni kangkung ± 15 g (1 subjek), daun singkong ± 25 g (1 subjek) dan sayur asem ± 50 g (1 subjek). Peneliti berharap ketidakpatuhan yang rendah ini tidak mempengaruhi hasil yang diperoleh.

KESIMPULAN

Subjek diketahui kurang mengonsumsi pangan tinggi kadar polifenol dalam kesehariannya. Setelah intervensi takokak, kadar SOD eritrosit subjek meningkat namun tidak signifikan. Intervensi takokak menurunkan kadar 8-isoprostan serum secara signifikan dibandingkan kontrol. Hal ini berarti bahwa intervensi takokak dapat memperbaiki kondisi stres oksidatif pada wanita dewasa gemuk yang ditunjukkan oleh penurunan kadar 8-isoprostan serum yang merupakan produk hasil peroksidasi lipid.

Peneliti menyarankan adanya penelitian lanjutan menggunakan takokak dalam bentuk ekstrak atau modifikasinya menjadi makanan atau minuman ringan. Peneliti juga menyarankan penelitian lanjutan menyertakan subjek dengan penyakit-penyakit klinis tidak menular yang berhubungan dengan stres oksidatif, seperti penyakit kardiovaskular, kanker, atau diabetes melitus.

DAFTAR PUSTAKA

- Ari-Agung IGA, Suryadhi NT, Mantik NA, Suter IK, Partama IBG. 2013. Combination of tempeh and carrot prevent atherosclerosis wistar rat: indicated by increase of HDL and total antioxidant, decrease LDL, F2-isoprostan, and IL-6. *IJBS* 7(1):30-36.
- Andarwulan N, Dewi K, Riza AA, Hardianzah R, Anna VR, Bradley WB. 2012. Polyphenols, carotenoids, and ascorbic acid in underutilized medicinal vegetables. *J Funct Foods* 4:339-347.
- Annuzzi G, Bozzetto L, Costabile L, Giacco R, Mangione A, Anniballi G, Vitale M, Vetrani C, Cipriano P, Corte GD, *et al.* 2014. Diets naturally rich in polyphenols improve fasting and postprandial dyslipidemia and

- reduce oxidative stress: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 99:463-71.
- Babu PVA, Sabitha KE, Shyamaladevi CS. 2006. Therapeutic effect of green tea extract on oxidative stress in aorta and heart of streptozotocin diabetic rats. *Chem-Biol Interact* 162:114-20.
- [Balitbangkes] Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 2013. Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas). Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Camps J, Heredia AG, Aguilera AH, Joven J. 2016. Paraoxonases, mitochondrial dysfunction and non-communicable diseases. *Chem Biol Interact* doi: 10.1016/j.cbi.2016.04.005.
- Chow SC, Shao J, Wang H. 2008. *Sample Size Calculations in Clinical Research* 2nd ed. USA: CRC Press.
- Gandhi GR, Ignacimuthu S, Paulraj MG. 2011. *Solanum torvum* Swartz: fruit containing phenolic compounds shows antidiabetic and antioxidant effects in streptozotocin induced diabetic rats. *Food Chem Toxicol* 49:2725-2733.
- Issa AY, Volate SR, Wargovich MJ. 2006. The role of phytochemicals in inhibition of cancer and inflammation: New directions and perspectives. *J Food Compos Anal* 19:405-419.
- Khan I, Yousif AM, Johnson SK, Gamlath S. 2015. Acute effect of sorghum flour-containing pasta on plasma total polyphenols, antioxidant capacity and oxidative stress markers in healthy subjects: A randomised controlled trial. *J Clin Nutr* 34(3):415-421.
- Kusirisin W, Jaikang C, Chaiyasut C, Narongchai P. 2009. Effect of polyphenolic compounds from *Solanum torvum* on plasma lipid peroxidation, superoxide anion and cytochrome p450 2E1 in human liver microsomes. *Med Chem* 5:583-588.
- Li N, Jia X, Chen C-YO, Blumberg JB, Song Y, Zhang W, Zhang X, Ma G, Chen J. 2007. Almond consumption reduces oxidative DNA damage and lipid peroxidation in male smokers. *J Nutr* 137:2717-22.
- Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémèsy C, Jiménez L. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr* 79: 727-47.
- Muchtadi D. 2004. Komponen bioaktif dalam pangan fungsional. *Majalah Gizi Medik Indonesia* 3(7):4-6.
- Rahman N, Marliyati SA, Damanik MRM, Anwar F. 2013. Antioxidant activity and total phenol content of ethanol extract takokak fruit (*Solanum torvum*). *PJN* 12(11):973-977.
- Rahman N, Marliyati SA, Damanik MRM, Anwar F. 2015. Anti-inflammatory potential of takokak (*Solanum torvum*) ethanol extract in rats exposed to 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (dmBa). *J Biomed Transl Res* 01:7-15.
- Ramamurthy CH, Kumar MS, Suyavaran SA, Mareeswaran R, Thirunavukkarasu C. 2012. Evaluation of antioxidant, radical scavenging activity and polyphenolics profile in *Solanum torvum* L. fruits. *J Food Sci* 77(8):C907-C913.
- Ramatina, Amalia L, Ekayanti I. 2014. Pengaruh suplemen antioksidan terhadap kadar malondialdehid plasma mahasiswa IPB. *J Gizi Pangan* 9(1):35-42.
- Randox Laboratories. 2009. *RanSOD Superoxide Dismutase Manual*. United Kingdom <http://www.randox.com> [diakses 10 Mei 2016].
- Rani V, Deep G, Singh RK, Palle K, Yadav UCS. 2016. Oxidative stress and metabolic disorders: pathogenesis and therapeutic strategies. *Life Sci* 148:183-193 doi: 10.1016/j.lfs.2016.02.002.
- Utari DM. 2011. Efek intervensi tempe terhadap profil lipid, superoksida dismutase, LDL teroksidasi dan malondialdehyde pada wanita menopause [disertasi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Vincent HK, Innes KE, Vincent KR. 2007. Oxidative stress and potential interventions to reduce oxidative stress in overweight and obesity. *Diabetes Obes Metab* 9:813-839.
- Waghulde H, Kamble P, Patankar P, Jaiswal B, Pattanyak S, Bhagat C, Mohan M. 2011. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of seeds of *Punica granatum* (puniceae) and *Solanum torvum* (solanaceae). *Pharmacologyonline* 1:193-202.
- Wang Z, Ciabattini G, Créminon C, Lawson J, Fitzgerald GA, Patrono C, MacLough J. 1995. Immunological characterization of urinary 8-*epi*-prostaglandin F2 α excretion in man. *J Pharmacol Exp Ther* 275:94-100.
- Wetwitayaklung P, Phaechamud T. 2011. Antioxidant activities and phenolic content of *Solanum* and *Capsicum* sp. *Res J Pharm Biol Chem Sci* 2(2):146-154.
- [WNPJ] Widyakarya Nasional Pangan dan Gizi. 2004. *Ketahanan Pangan dan Gizi di Era Otonomi Daerah dan Globalisasi*. Jakarta: Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia.